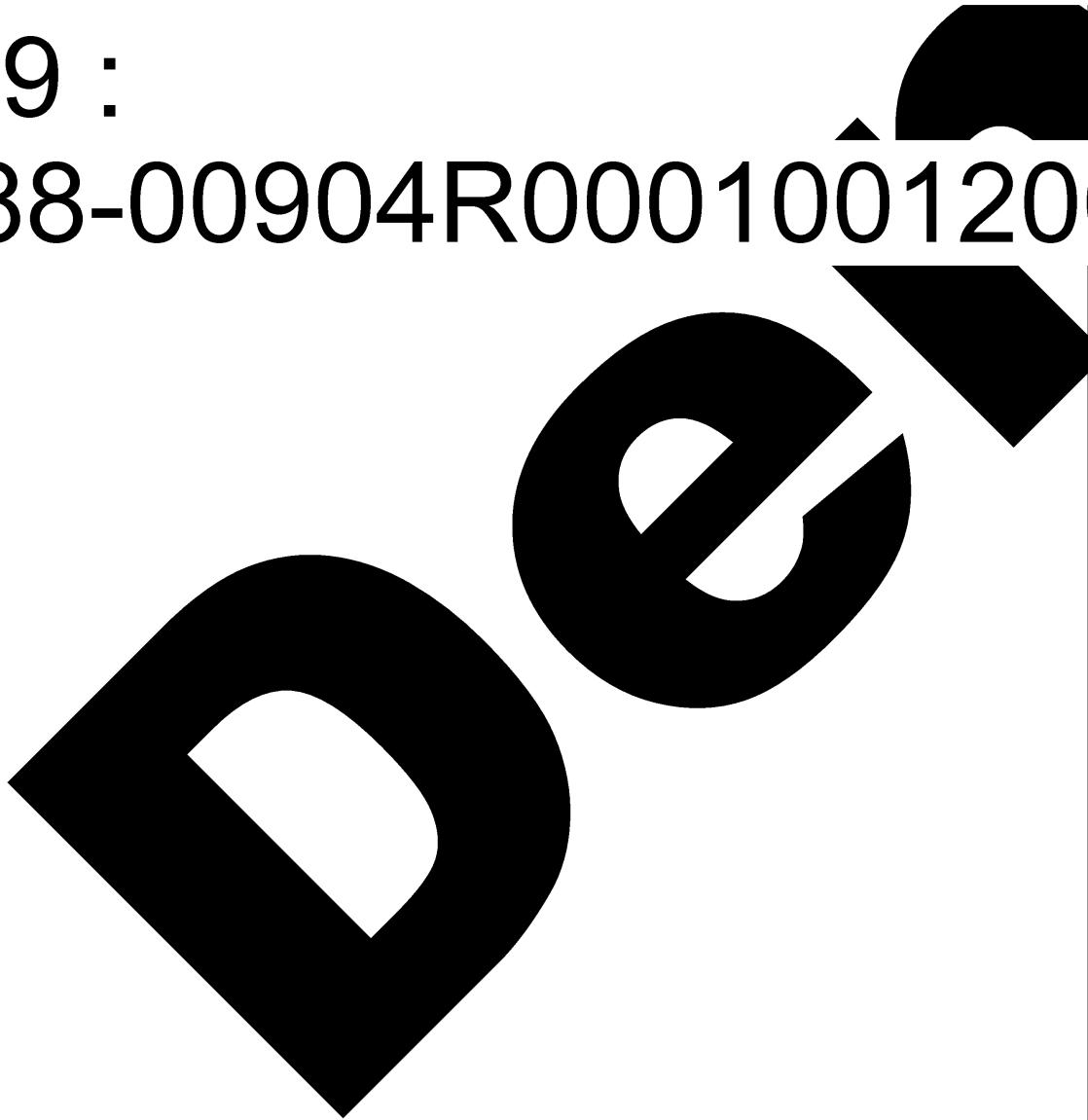
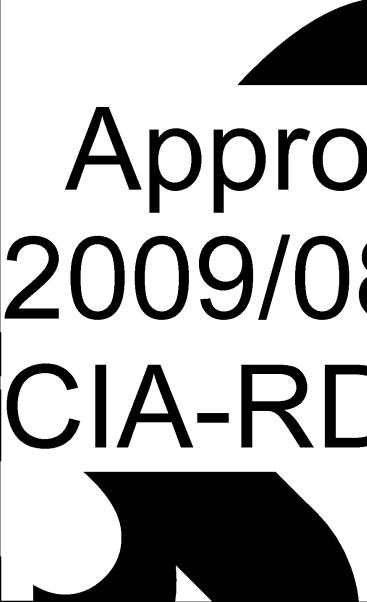


Approved For Release STAT  
2009/08/19 :  
CIA-RDP88-00904R000100120



Approved For Release  
2009/08/19 :  
CIA-RDP88-00904R000100120





Вторая Международная конференция  
Организации Объединенных Наций  
по применению атомной энергии  
в мирных целях

A/CONF. 15/P/2135  
URSS  
ORIGINAL: RUSSIA

На подлежит оглашению до официального сообщения на Конференции

ИССЛЕДОВАНИЯ ФОТОСИНТЕЗА ПРИ ПОМОЩИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ  
РАДИОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

О.В. Заленский, В.Л. Вознесенский,  
О.А. Семихатова

I. Введение

Применение радиоактивного углерода для исследований фотосинтеза оказалось исключительно плодотворным и поставило всю рассматриваемую проблему на новый, более высокий уровень. Как известно, в настоящее время радиоактивный изотоп углерода - С<sup>14</sup> - весьма успешно используется преимущественно для изучения пути метаболизма органических веществ, возникающих при кратковременном фотосинтезе. Методы подобных исследований в основном имеют своей целью установить последовательность появления С<sup>14</sup> в тех или иных метаболитах. Поэтому, как правило, такие методы имеют качественный характер.

Однако задачи исследований фотосинтеза не ограничиваются только этой областью. В ряде случаев возникает необходимость одновременного изучения интенсивности фотосинтеза, качественного состава образующихся продуктов и их передвижения по растению в пределах длительных интервалов времени. Изучение перечисленных вопросов связано с необходимостью разработки специфических количественных методов исследования, основанных на вычислении абсолютного количества поглощаемой углекислоты и определении баланса углерода в растениях. Применение радиоактивного углерода может дать много нового в этой области исследований.

Попытки использования С<sup>14</sup> для учета количества СО<sub>2</sub>, поглощаемого при фотосинтезе, встречаются в работах А.Л. Курсанова, Н.Н. Крюковой и М.И. Пушкаревой (1), Стиман-Нильсена (Steeman Nilsen) (2), Кальвина и Массини (Calvin, Massini) (3) и др. Однако методика количественного определения радиоактивного изотопа углерода - С<sup>14</sup> - до сих пор недостаточно разработана для решения практи-

ЗОК. 2557

-2-

ческих задач.

Занимаясь изучением некоторых сторон проблемы фотосинтеза (интенсивность, распределение ассимилированного углерода среди органических веществ растения, взаимоотношения между фотосинтезом и дыханием, передвижение продуктов ассимиляции), мы встретились с необходимостью разработки количественных радиометрических методов исследования этого процесса. Несмотря на то, что эти методы имеют своей целью исследование различных показателей фотосинтеза, они могут быть использованы в других разделах биохимии, связанных с изучением метаболизма углерода. Ниже излагаются методические основы и краткие результаты исследований, проведенных коллективом лаборатории фотосинтеза Ботанического института АН СССР и Чамирской биологической станции АН Таджикской ССР (О.В. Заленский, О.А. Семихатова, В.Л. Вознесенский, Т.П. Штанько, Л.А. Филиппова, М.М. Пономарева, Т.А. Глаголева).

2. Принцип количественного определения интенсивности фотосинтеза и распределения ассимилированного углерода среди органических веществ растений по измерению активности  $C^{14}$  в растительном материале

Принципиальная схема опытов, на основании которых был разработан метод количественного определения интенсивности фотосинтеза, заключалась в сравнении количества  $CO_2$  известной удельной активности, поглощенной растениями в процессе фотосинтеза, с измеренной активностью  $C^{14}$  в препаратах, сделанных из этих же растений.

Для определения количества меченой углекислоты, поглощаемой в процессе фотосинтеза, лист того или иного вида растения, взятого для опытов, помещался в специально изготовленную радиометрическую камеру из органического стекла (рис. 1).

Камера в темноте наполнялась смесью воздуха с  $CO_2 + C^{14}CO_2$  (1% по объему), имевшей удельную активность 0,5 мкюри на 1 л углекислоты. После этого производилось несколько измерений радиоактивности газовой смеси, и по кривой зависимости числа импульсов газовой смеси от концентрации  $CO_2$  (построенной по данным предварительных опытов) точно определялась начальная концентрация углекислоты в камере. Затем находящийся в камере лист растения освещался через водяной фильтр зеркальной лампой, и измерялась концен-

-3-

трация углекислоты в течение всего опыта. После окончания экспозиции растения фиксировались горячим спиртом и из них приготавливались препараты. По кривой изменения концентрации  $\text{CO}_2$  в камере устанавливалось начальное и конечное количество этого газа, а по разности полученных величин - количество углекислоты, поглощенное листом растения.

Далее определялась активность препаратов, приготовленных из находившихся в камере растений. Радиоактивность этих препаратов также измерялась торцевым счетчиком  $\beta$ -частиц ( $\alpha = 20$  мм), установленном на расстоянии 1,5 см от препарата. Для вычисления активности препаратов в результат первичного отсчета вносились поправки на фон счетчика и на самопоглощение  $\beta$ -частиц в слое препарата. Величина поправки на самопоглощение в каждом отдельном случае устанавливалась по кривой, построенной на основании многочисленных экспериментов, выполненных в лаборатории.

Если для опыта брались довольно большие растения и приготовленного порошка было много, то из него изготавлялось несколько препаратов. В этом случае активности каждого препарата после введения указанных выше поправок суммировались. Сумма активностей всех препаратов выражала собой как бы общую активность  $\text{C}^{14}$  во взятых для опыта растениях (в импульсах в минуту при описанных параметрах счетчика  $\beta$ -частиц).

2551  
Результаты проведенных опытов (4) представлены в таблице (графы 2 и 3) и на рис. 2, из которых видно, что величина общей активности растений при определенной удельной активности исходной газовой смеси строго пропорциональна количеству поглощенной ими углекислоты.

Для вычисления абсолютного значения интенсивности фотосинтеза по измерению активности препаратов, приготовленных из листьев, необходимо определить коэффициент пропорциональности ( $K$ ) между количеством поглощенной ими углекислоты и величиной общей активности приготовленного из них порошка. Для этого зависимость между рассматриваемыми величинами можно представить в виде уравнения

$$N = \alpha K X, \quad (1)$$

где  $N$  - общее количество имп./мин;  $\alpha$  - удельная радиоактивность углекислоты в мкюри/л  $\text{CO}_2$ ;  $X$  - количество углекислоты, поглощенное листом, и  $K$  - искомый коэффициент пропорциональности.

-4-

Зависимость общего количества импульсов в минуту от количества миллиграммов  $\text{CO}_2$ , поглощенного растением

№ опы- тков	Общее количество имп./мин.	Количе- ство мг $\text{CO}_2$ , по- глощенное растени- ем**)	Количе- ство мг $\text{CO}_2$ , вы- числен- ное***)	Абсолют- ная ошиб- ка (в мг $\text{CO}_2$ )	Относи- тельная ошибка (в %)	Средняя относи- тельная ошибка (в %)
1	2	3	4	5	6	7
1	1422	0,26	0,29	0,03	11,0	
2	2609	0,50	0,53	0,03	6,0	
3	3077	0,61	0,62	0,01	1,6	
4	4408	1,01	0,88	0,13	13,0	
5	7275	1,44	1,45	0,01	0,7	
6	8102	1,66	1,62	0,04	2,4	
7	14600	3,02	3,00	0,02	0,7	
8	15700	3,85	3,20	0,65	17,0	
9	21500	4,54	4,35	0,29	6,4	6,1
10	27020	5,00	5,40	0,40	8,0	
11	29390	6,15	5,97	0,18	2,7	
12	39360	8,40	8,00	0,40	4,7	
13	61650	13,40	12,3	1,10	8,2	
14	73910	13,40	14,8	1,40	10,4	
15	88400	17,10	17,7	0,60	3,5	
16	110770	21,80	22,0	0,20	0,9	

Примечания:

\*) Общее количество имп./мин. с поправками на фон счетчика и самопоглощение  $\beta$ -частиц в препарате.

\*\*) Количество миллиграммов  $\text{CO}_2$ , поглощенное растениями, вы-  
считанное по уменьшению концентрации  $\text{CO}_2$  в камере.

\*\*\*) Количество миллиграммов  $\text{CO}_2$ , высчитанное по общему коли-  
честву имп/мин по графику (рис. 2) или по формуле (3), приведен-  
ной выше.

-5-

Решая это уравнение относительно  $K$  и подставляя в него значения остальных величин ( $N$  и  $X$  из графика), получаем:

$$K = \frac{N}{\alpha X} = \frac{10 \cdot 10^4}{0,5 \cdot 20} = 10^4 \quad (2)$$

Применяя эту формулу (разрешенную относительно  $X$ ) для вычисления интенсивности фотосинтеза растений, мы должны ввести в нее экспозиции листа на свету в атмосфере радиоактивной углекислоты ( $t$ ) и его площадь или вес ( $S$ ). В итоге получаем следующую формулу для вычисления интенсивности фотосинтеза ( $X$ ):

$$X = \frac{N}{K \cdot \alpha \cdot t \cdot S} \quad (3)$$

2551

По данной формуле для опытов, приведенных в таблице, были вычислены интенсивности фотосинтеза растений (графа 4). Сравнение этих вычисленных величин с непосредственно определенным количеством углекислоты, поглощенным растениями (графа 3), дало вполне удовлетворительный результат, как это видно по величине средней относительной ошибки определений (6,1%). Необходимо подчеркнуть, что коэффициент  $K$  имеет величину, определенную из данных таблицы или рис. 2 ( $10^4$ ) только для той счетной установки, с которой были проведены измерения активности препарата из опытного листа. В каждом конкретном случае необходимо экспериментально определять значение этого коэффициента, так как оно изменяется в зависимости от индивидуальных особенностей торцового счетчика  $\beta$ -частиц и его геометрического расположения по отношению к препарату.

Таким образом, зная общую активность (имп./мин) препаратов, приготовленных из порошка растений или листа, экспонировавшихся в атмосфере  $CO_2$  определенной удельной радиоактивности, а также экспозицию и площадь листа (или его сухой вес), можно определить интенсивность фотосинтеза в  $mg CO_2 / dm^2 \cdot час$  или в  $mg CO_2 / g \cdot час$ .

Весьма важно, что по аналогичной формуле можно определить количество  $CO_2$  (или  $C$ ), вошедшее в процесс фотосинтеза в различные органические вещества, выделяемые из ассимилировавшего в атмосфере  $C^{14}O_2$  растения специальными приемами радиохимического анализа. Для этого необходимо точно определить вес и активность (имп./мин) выделяемых веществ, по которым можно вычислить не толь-

ко их удельную радиоактивность, но и количество мг поступившего в них С (или  $\text{CO}_2$ ). Сводя количественный баланс углерода в выделяемых веществах, можно определить его процентное распределение между ними. Перечисленные показатели позволяют делать заключения о скорости и направленности метаболических реакций, происходящих в растении.

Описанный радиометрический метод количественного исследования фотосинтеза был подвергнут дополнительной экспериментальной проверке (5).

Проверка проведена путем сравнения величин интенсивности фотосинтеза, вычисленных различными методами, одним из которых был радиометрический; применяли также метод "в токе воздуха" и манометрический метод Варбурга в модификации для листьев наземных растений. Измерения производились одновременно двумя методами на одном и том же листе растений или высечках из него.

Полученные средние отношения  $0,993 \pm 0,125$  (для методов "в токе воздуха" и радиометрического) и  $0,998 \pm 0,034$  (для манометрического и радиометрического) говорят о полном совпадении результатов расчета количества поглощенного  $\text{CO}_2$  этими различными методами. Ошибки 12,5 и 3,4% вполне допустимые погрешности сравниваемых методов и свидетельствуют о правильности радиометрических измерений. Из приведенных данных также следует, что изотопный эффект, действию которого некоторые авторы (6) отводят значительное место, не обнаруживается при нашей точности измерений и практически не влияет на результаты определений интенсивности фотосинтеза.

### 3. Методика исследования фотосинтеза в токе радиоактивной углекислоты

Одна из возможностей изучения фотосинтеза при помощи  $\text{C}^{14}$  заключается в определении его интенсивности, а также распределения углерода среди органических веществ растения (продукты фотосинтеза), производимом в токе воздуха, обогащенного радиоактивной углекислотой. Для этой цели срезанный или неотделенный лист (или побег) растения помещается в соответствующую листовую камеру (Б), соединенную в замкнутую систему с газгольдером (А), наполненным воздухом со смесью  $\text{CO}_2 + \text{C}^{14}\text{O}_2$ , определенной концентрации и удельной активности, а также с насосом (В) (рис. 3). Ток газовой сме-

-7-

си просасывается насосом из газгольдера через листовую камеру с листом обратно в газгольдер. После определенной экспозиции лист срезается, фиксируется спиртом, и из него приготавляются препараты. Вычисление интенсивности фотосинтеза производится по описанному выше методу. В нашей книге (7) дано подробное описание этой методики и анализа условий, обеспечивающих оптимальное снабжение ассимилирующих листьев углекислотой (концентрация и удельная активность углекислоты, скорость тока газовой смеси, применение радиоактивных буферных растворов и т.п.).

Основные особенности данной методики сводятся к следующему. 1. Определения фотосинтеза ведутся в искусственно созданной атмосфере, где интенсивность фотосинтеза не ограничивается недостатком углекислоты. 2. Изменения фотосинтеза учитываются по абсолютному количеству углекислоты, поглощенному за определенное время. При этом количество  $\text{CO}_2$  измеряется непосредственно в самом листе растения. 3. При изучении дневных изменений фотосинтеза после каждого определения лист растений срезается и фиксируется, тогда как обычно принято изучать изменения фотосинтеза на протяжении дня на одном и том же листе.

Таким образом, при помощи описанной методики мы получаем хорошо сравнимые между собой данные о интенсивности фотосинтеза в состоянии насыщения этого процесса по углекислоте. В.Н. Любименко (8) и В.А. Бриллиант (9) называют эту величину "потенциальной работоспособностью листа".

Описанная методика используется в ряде научно-исследовательских учреждений СССР для сравнительной характеристики интенсивности фотосинтеза растений в естественных условиях, для изучения динамики оттока ассимилятов, зависимости фотосинтеза от температуры и т.д.

#### 4. Методика изучения газообмена растений по изменению содержания радиоактивной углекислоты в замкнутых камерах

Интенсивность фотосинтеза и различных процессов обмена углекислоты, осуществляемых растением, можно определять и другим путем, изучая изменения концентрации и количества  $\text{CO}_2$  в воздухе или газовой смеси, окружающей лист.

Для этой цели мы предлагаем использовать различные конструкции герметически замкнутых камер, подобных приведенной на рис. 1. Существенное преимущество герметически замкнутых камер заключается в возможности непрерывно регистрировать процессы поглощения или выделения углекислоты растением. Нашиими исследованиями установлено, что такие камеры можно успешно использовать: а) для изучения процессов поглощения и выделения углекислоты листьями и другими органами растений; б) для определения зависимости фотосинтеза от концентрации углекислоты и интенсивности освещения. Первый из упомянутых путей использования герметически замкнутых камер представляет особенный интерес при исследованиях взаимоотношений между фотосинтезом и дыханием, по характеру газообмена представляющих собой два процесса, идущих во взаимно противоположных направлениях.

Для изучения этих вопросов, а также для определения зависимости фотосинтеза от концентрации углекислоты и интенсивности освещения был сконструирован прибор, изображенный на рис. 4. Он состоит из герметической камеры (А), водяного фильтра (Б) и осветителя (В). Интенсивность освещения в этом приборе изменяется при помощи специального шторного затвора. Регистрация изменений поглощения или выделения меченой углекислоты производится счетной установкой, соединенной с самописцем.

Определение зависимости фотосинтеза от концентрации углекислоты основано на том, что концентрация  $\text{CO}_2$  в камере при освещении листьев вначале падает почти линейно, затем скорость падения уменьшается и достигает нулевого значения (рис. 5). Линейный участок кривой (АБ) указывает на то, что интенсивность фотосинтеза в этих пределах концентрации  $\text{CO}_2$  (в данном случае 0,38-0,05) не зависит от концентрации углекислоты. Определяя интенсивность фотосинтеза по этому участку, можно сравнивать между собой различные растения, листья разного возраста и отношение их к свету и другим факторам, влияющим на фотосинтез<sup>1)</sup>.

Дальнейший ход кривой (участок ВГ) показывает, что интенсив-

1) На рис. 5 заметно, что в течение первых пяти минут после включения света лист аралии имел более низкий фотосинтез. Это явление наблюдается после длительного выдерживания растений в темноте.

-9-

ность фотосинтеза начинает зависеть от концентрации  $\text{CO}_2$  в камере. По наклону касательных, проведенных к данной кривой, зная площадь листовой поверхности и объем камеры, можно вычислить интенсивность фотосинтеза для любой концентрации  $\text{CO}_2$ .

Ранее для определения зависимости интенсивности фотосинтеза от концентрации  $\text{CO}_2$  искусственно создавали разные концентрации углекислоты. Используя герметические камеры, можно проследить эту зависимость для одного и того же листа или растения за короткий промежуток времени, так как концентрация  $\text{CO}_2$  сама изменяется на протяжении фотосинтеза. Зависимость фотосинтеза от интенсивности освещения можно определить по изменению наклона линейного участка (АБ) кривой содержания меченой углекислоты в камере (рис. 5).

Подводя итог методической части нашей работы, следует отметить, что исследования фотосинтеза при помощи радиоактивного углерода позволяют одновременно количественно определять не только интенсивность этого процесса, но и участие поглощенного углерода в образовании различных органических веществ. Производя подобные определения во времени, можно одновременно изучать процессы метаболизма органических веществ, в состав которых вошел меченный углерод, и их передвижение по растению. Изменяя условия, в которых происходит фотосинтез, можно одновременно исследовать зависимость его интенсивности и метаболических реакций от таких важнейших факторов внешней среды, как свет, углекислота, температура и т.п.

## 5. Краткий обзор результатов исследований фотосинтеза

### а) Фотосинтез растений в естественных условиях

Основная задача наших исследований в этой области заключается в выявлении закономерностей изменений фотосинтеза и дыхания растений различных ботанико-географических зон. В настоящее время мы располагаем рядом хорошо сравнимых между собой определений дневных и сезонных изменений интенсивности фотосинтеза, полученных у различных по экологии растений, в следующих ботанико-географических зонах: 1) лесной пояс и горные тундры европейской субарктики (Хибины); 2) зона северной темнохвойной тайги (Вологодская обл.); 3) лесной субальпийский и альпийский пояс влажных высокогорий Кавказа (Теберда); 4) пояс холодных пустынь и субни-

-10-

вальной криофильной растительности континентальных высокогорий Памира. Некоторые общие виды растений (например, виды рода *Vaccinium* ) изучались одновременно в первых трех типах ботанико-географических условий. Кроме того, в оранжереях Ботанического института АН СССР (Ленинград) велись исследования фотосинтеза ряда тропических растений.

Не имея возможности характеризовать здесь интересные особенности ассимиляционно-диссимиляционной деятельности растений в каждой из перечисленных ботанико-географических зон, приведем некоторые выводы, вытекающие из этой работы. Эти выводы основываются на собственных и литературных данных о фотосинтезе, определявшемся обычными методами исследования этого процесса в естественных условиях (I0, II).

Исследования показали, что в каждой ботанико-географической зоне существуют виды растений, имеющие как высокую, так и низкую интенсивность фотосинтеза. Однако оказывается, что степень дифференциации между видами по интенсивности фотосинтеза возрастает по мере увеличения континентальности климата. Наименьшая степень такой дифференциации между видами отмечается у тропических растений, а наибольшая - у растений пустынь и высокогорий. Вследствие этого среди тропических растений до сих пор не встречено видов, имеющих высокую максимальную интенсивность фотосинтеза. С другой стороны, в континентальных высокогорьях и пустынях, наряду с видами, имеющими низкий фотосинтез, встречаются виды с очень высокой максимальной интенсивностью рассматриваемого процесса. Своебразное место в этом отношении занимают растения крайнего севера, среди которых также пока не найдено видов с высокой интенсивностью ассимиляции.

Отмеченная дифференциация видов по интенсивности фотосинтеза может быть далее прослежена в особенностях его дневных и сезонных изменений. Среди тропических растений, по-видимому, преобладают виды с равномерным дневным и сезонным ходом фотосинтеза, тогда как среди растений континентальных областей отмеченные изменения фотосинтеза выражены более резко.

Результаты исследований последних лет, проведенных в указанных выше ботанико-географических зонах радиометрическим методом, при помощи которого определяется потенциальная работоспособность ассимиляционного аппарата растений, подтверждают сде-

-II-

ланные заключения. Существование описанных выше закономерностей изменений фотосинтеза не только при естественной, но и при насыщающей концентрации углекислоты свидетельствует о том, что максимальная интенсивность фотосинтеза различных типов растений обусловлена не столько непосредственным воздействием внешних факторов, сколько определенной величиной фотосинтетической способности самих листьев. Далее исследования показали, что даже в крайних для жизни условиях обитания растений, например в высокогорьях Памира, основные особенности фотосинтеза оказываются резко различными у разных видов совместно обитающих растений (12). С другой стороны, некоторые одноименные виды растений (например, *Vaccinium myrtillus*), изученные в совершенно различных климатических условиях таких, как тундра Крайнего Севера, таежная зона или субальпийский пояс растительности на Кавказе, показывают поразительное сходство основных показателей ассимиляционной деятельности. Эти факты показывают, что фотосинтетическая способность, как и другие особенности фотосинтеза (характер распределения поглощенного углерода среди органических веществ, зависимость от света и др.), по-видимому, определяется наследственными свойствами отдельных видов, отражая в себе исторические условия их формирования. То же самое можно сказать и о дыхании растений (13), изменения которого, по-видимому, аналогичны описанным для фотосинтеза.

Использование радиоактивного углерода позволило провести в нашей лаборатории серию исследований диапазона изменчивости фотосинтеза у различных растений по отношению к таким важнейшим факторам, как интенсивность освещения и концентрация углекислоты.

На основании данных, полученных на нескольких десятках видов, показано, что насыщение фотосинтеза светом наступает у некоторых видов при 1000 лк (*Begonia imperata*), тогда как другие (*Lindelofia stylosa*) повышают его интенсивность до полной солнечной освещенности, достигающей, например, в условиях высокогорий Памира 150 000 лк. Наиболее светолюбивые (или светоустойчивые) виды растений, как правило, характеризуются высокой максимальной интенсивностью фотосинтеза, что позволяет предполагать существование связи между отношением растений к свету и активностью реакций метаболизма углерода. Однако тип кривой и положение точки светового насыщения фотосинтеза на шкале интенсивности освещения у подавляющего большинства растений мало или со-

всем не изменяется в процессе онтогенеза листа. Явления онтогенетической адаптации к свету, связанные с изменением условий среды, особенностей анатомического строения листа или его возраста, характерны лишь для сравнительно небольшой группы пластичных видов. Почти у всех изученных видов насыщение фотосинтеза углекислотой наблюдается при концентрации 0,05 - 0,15%. Отдельные случаи насыщения при более высокой концентрации, по-видимому, объясняются пониженной скоростью диффузии  $\text{CO}_2$  из окружающего воздуха к ее акцепторам в клетке, связанной с организацией ассимилирующих органов.

Приведенные данные подтверждают сделанный выше вывод о важной роли наследственности как фактора, определяющего потенциальные возможности осуществления фотосинтеза растений.

Сравнение рассматриваемых показателей у представителей различных филогенетических групп наземных растений позволяет сказать что только среди покрытосемянных возникли виды, фотосинтез которых оказался в несколько раз более интенсивным, что дало таким видам способность жить в гораздо более широком диапазоне условий внешней среды. Это свойство, по-видимому, было реализовано в процессе естественного отбора и получило дальнейшее эволюционное развитие, особенно в континентальных климатических областях земного шара.

### б) Продукты фотосинтеза

Применение  $\text{C}^{14}$  позволило наметить и экспериментально обосновать основные реакции цикла фотосинтетических превращений углерода, происходящего в течение сравнительно короткого интервала времени (14, 15). Обзор этих исследований проведен Басхемом и Кальвиным (16). Однако само понятие о веществах, которые можно называть продуктами фотосинтеза, до сих пор является крайне неопределенным. История поисков первичных продуктов фотосинтеза убедительно показывает, что до настоящего времени не удалось установить ни одного органического вещества, образование которого было бы специфически связано с действием света. Пока не найдено ни одной ферментной системы, специфичной для реакций фотосинтеза и не принимающей участия в цикле дыхания. Не доказано также, что восстанавливающие агенты и вещества, переносящие энергию, образующиеся при фотосинтезе, имеют специфическую природу, отличную от возникающих при дыхании.

-13-

С другой стороны, выяснено (16), что уже на самых первых этапах фотосинтетического превращения углерода его реакции почти невозможно отделить от темновых метаболических реакций углеродо-содержащих соединений. Большинство (если не все) до сих пор известных реакций фотосинтетического восстановления углерода осуществляется, хотя и с замедленной скоростью, в темноте. В происходящих на свету и в темноте реакциях карбоксилирования также имеется много общего (17). Наконец, современные данные доказывают многообразие продуктов фотосинтеза, к числу которых относятся даже такие сложные соединения, как белки (18, 19, 20, 21).

Все это позволяет высказать представление о том, что химическая природа органических веществ, образующихся при участии фотосинтеза, определяется свойствами субстратов, на которых происходит фиксация, восстановление и последующий метаболизм поглощенного листом углерода (22).

Одним из путей экспериментального подтверждения этого представления является изучение влияния темновых метаболических процессов на особенности превращения углерода, поглощенного в процессе фотосинтеза. В одной из работ, выполненных в нашей лаборатории, была поставлена задача выяснить, как распределяется углерод, поглощенный за 10 минут фотосинтеза, среди органических веществ листьев у различных видов растений в разное время дня и вегетационного периода. Таким образом, исследования распределения углерода, поглощенного при фотосинтезе, проводились на растениях с несомненной неоднородностью состояния и состава субстратов и ферментных систем. Обязательным требованием, предъявляемым к результатам таких опытов, является строго количественные определения, обеспечивающие возможность сведения баланса углерода, поглощенного при фотосинтезе и найденного в выделяемых при анализе органических веществах или их группах.

В результате опытов выяснилось (23, 24), что количественное распределение поглощенного при фотосинтезе углерода среди органических веществ листьев оказывается неодинаковым у разных видов. Вместе с тем, состав сахаров, а также органических кислот является весьма однообразным. Далее отмечено, что процент углерода, участвующего в образовании сахаров, возрастает от утренних часов к вечерним. Например, листья *Lindelofia stylosa* вечером не образуют почти никаких веществ, кроме сахаров, на синтез которых поступает 94% всего поглощенного углерода. С другой стороны,

-14-

процент углерода, поступающего в органические кислоты, оказывается наибольшим рано утром, а затем довольно резко снижается. Наряду с этим, доля углерода, входящего в состав веществ, остающихся после извлечения сахаров и органических кислот, оказывается большей рано утром, когда начинается фотосинтез, чем днем, когда он протекает уже в течение нескольких часов и достигает высокой интенсивности. Распределение поглощенного при фотосинтезе углерода изменяется на протяжении вегетационного периода растений. Например, осенью количество углерода, используемого на синтез сахаров, оказывается более значительным, чем летом.

Кроме этих исследований, в нашей лаборатории был проведен цикл опытов, в которых различия темнового обмена создавались экспериментально при помощи воздействия температуры (25). Распределение поглощенного при фотосинтезе углерода среди основных групп органических веществ у таких растений с различным темновым дыхательным обменом также оказывается неодинаковым (10).

Полученные данные свидетельствуют о том, что предшествовавшие фотосинтезу особенности дыхания изменяют скорость реакций метаболизма поглощаемого при фотосинтезе углерода, что, вероятно, связано с изменением его пути, до сих пор детально изученного только в очень стандартизованных условиях культуры одноклеточных водорослей.

Важнейшей задачей дальнейших исследований в этой области является выяснение роли метаболических реакций дыхания в превращениях углерода, происходящих непосредственно в веществах названного Кальвином фотосинтетического цикла.

#### в) Взаимоотношения между фотосинтезом и дыханием

Изотопный метод в принципе дает уникальную возможность расчленить фотосинтетический и дыхательный обмен углекислоты и кислорода (26, 27). Одна из задач наших исследований сводилась к попытке экспериментально расчленить фотосинтетический и темновой обмен углекислоты. Для этого листья, предварительно ассимилировавшие  $\text{C}^{14}$ , переносились в герметические камеры с нерадиоактивной газовой смесью, и на свету или в темноте определялось, есть ли выделение меченой углекислоты. Были использованы три различных способа исследования: 1) изучение выделения  $\text{CO}_2 + \text{C}^{14}\text{O}_2$  по изменению радиоактивности окружающей лист атмосферы в условиях

-15-

герметически замкнутой системы; 2) изучение выделения  $\text{CO}_2$  из листа растений, производимое в токе воздуха, лишенного этого газа; 3) изучение выделения меченой углекислоты по потере радиактивности, измеряемой непосредственно в растительном материале. Результаты ~~этих~~ <sup>этих</sup> детально рассмотрены в нашей работе (28).

Опыты ~~показывают~~ показывают, что при интенсивности освещения, превышающей компенсационную точку, нормально ассимилирующие листья не выделяют углекислоты дыхания в измеримом количестве. Это наблюдается как при насыщающей фотосинтез внешней концентрации углекислоты, так и в атмосфере без  $\text{CO}_2$ . Выделение углекислоты дыхания на свету может происходить только при условиях, нарушающих нормальную физиологическую деятельность листа и, по-видимому, вызывающих повреждение ассимиляционного аппарата. К таким условиям относится повышение температуры до сублетальной, завядание листьев а для некоторых растений, вероятно, очень высокая интенсивность освещения.

На основании результатов этих опытов мы считаем, что обмен  $\text{CO}_2$  нормально функционирующих листьев растений может происходить либо по фотосинтетическому (на свету), либо по дыхательному (в темноте) типам. При этом на свету может происходить или предпочтительное использование уже внутри клеток дыхательной углекислоты на фотосинтез, или изменение в самом механизме дыхания (29). Учитывая приведенные в предыдущем разделе факты, свидетельствующие о возможном единстве субстратов и ферментных систем фотосинтеза и дыхания, мы предпочитаем второе предположение.

г) Передвижение и метаболизм углерода, поглощенного в процессе фотосинтеза

Как известно, при помощи  $\text{C}^{14}$  можно установить локализацию поглощенного при фотосинтезе углерода в тех или иных частях ассимилирующей клетки или листа, а также исследовать многообразные особенности передвижения и метаболизма органических веществ, включающих в свой состав меченный углерод. В этой области особенно необходимо комплексное изучение баланса количества углерода в целом растении, т.е. баланса его поступления, расходования, перераспределения и передвижения по растению в форме различных метаболитов.

-16-

В результате ряда опытов было установлено (10, 22), что после 10-40 минут фотосинтеза в атмосфере с радиоактивной углекислотой меченный углерод может быть обнаружен в оставленных в обычных условиях растениях по крайней мере в течение двух недель. Это позволило провести исследования, имевшие своей целью проследить, что происходит с поглощенным углеродом в течение длительного интервала времени (4-5 дней). В частности, было изучено, как изменяются во времени, прошедшем после фотосинтеза, скорость расходования ассимилированного углерода на дыхание всего растения и передвижение органических веществ, содержащих  $C^{14}$ , из надземной части в корневую систему. Кроме того, детально прослеживалось последействие различной температуры на перечисленные процессы.

В результате проведенных опытов было установлено (22, 23), что углерод с наибольшей скоростью расходуется на дыхание в первые часы после того, как он был поглощен в процессе фотосинтеза. С увеличением времени, прошедшего после фотосинтеза, скорость расходования ассимилированного углерода быстро снижается, так как, наряду с использованием на дыхание, он постепенно входит в состав более сложных органических веществ, не принадлежащих к числу дыхательных субстратов.

Передвижение органических веществ, содержащих меченный углерод, из листьев в корневую систему растений также происходит с наибольшей скоростью в первые часы после фотосинтеза. Пониженная ночная температура ( $0^0$ ), при которой до опыта выращивались растения, активизирует отток образовавшихся при фотосинтезе ассимилятов. Кроме того, последействие пониженной температуры вочные часы сильно задерживает накопление поглощенного при фотосинтезе углерода в липидах, сложных белках и клетчатке листьев растений и увеличивает его содержание в сложных белках корней. Эти данные свидетельствуют о теснейшей связи между фотосинтезом и деятельностью корневой системы, намеченной исследованиями Сабинина (30) и Курсанова (31).

Опыты, подобные изложенным, открывают новые перспективы в изучении координации фотосинтеза с другими процессами жизнедеятельности растений и прежде всего с особенностями их роста и развития в различных условиях.

В заключение нам хотелось подчеркнуть, что существенное преимущество радиометрических методов изучения фотосинтеза и дыхания заключается в возможности одновременно исследовать комплекс

различных количественных и качественных показателей, характеризующих эти важнейшие процессы жизнедеятельности растений. Перспективы использования этих методов в сочетании с другими методами современной физиологии и биохимии лишь намечаются в настоящее время и нуждаются в дальнейшей углубленной экспериментальной разработке.

### Л и т е р а т у р а

1. Курсанов А.Л., Крюкова Н.Н., Пушкарева М.Н. Темновая фиксация и освобождение углекислоты, поступающей в растение через корни, Докл. АН СССР, 1953, 88, 937-940
2. Steeman Nielsen E. Carbon dioxide concentration, respiration during photosynthesis and maximum quantum yield of photosynthesis. *Physiol. Plantarum*, 1953, 6, 316-322
3. Calvin M., Massini P. The path of carbon in photosynthesis, XX. The steady state, *Experientia*, 1952, 8, 445-457
4. Вознесенский В.Л. Количественные измерения интенсивности фотосинтеза при помощи радиоактивного изотопа углерода  $C^{14}$ . Ботан. ж. 1955, 40, 402-408
5. Вознесенский В.Л., Семихатова О.А., Сааков С.Г. Экспериментальная проверка радиометрического метода расчета интенсивности фотосинтеза, Физиол. растений, 1958, 5 (в печати)
6. Van Norman R., Brown A.H. The relative rates of photosynthetic assimilation of isotopic forms of carbon dioxide. *Plant Physiol.*, 1952, 27, 691-709
7. Заленский О.В., Семихатова О.А., Вознесенский В.Л. Методы применения радиоактивного углерода  $C^{14}$  для изучения фотосинтеза. Изд-во АН СССР, М.-Л., 1955
8. Любименко В.Н. Фотосинтез и хемосинтез в растительном мире. Сельхозгиз, Л., 1935.
9. Бриллиант В.А. Методы изучения фотосинтеза, Тр. Ботан.ин-та АН СССР, Сер. IV, Эксперим. ботан., 1950, 7, 358-385
10. Zalensky O.V. Photosynthese dans les condition naturelle. *Essais de Botanique*, 1954, 1, 61-87
11. Verduin J. A table of photosynthetic rates under optimal near-natural conditions. *Amer.J.Bot.*, 1954, 40, 675-680
12. Заленский О.В. Об эколого-физиологическом изучении факторов продуктивности дикорастущих многолетних растений. Сб.ра-

бот по геоботанике, лесоведению, палеогеографии и флористике. Академику Сукачеву к 75-летию со дня рождения. Изд-во АН СССР, М.-Л., 1956, 217-230

13. Семихатова О.А. Об изменениях дыхания растений Памира от резкой смены температуры, Тр. Ботан. ин-та АН СССР, Сер. IV, Экспер. ботан., 1956, 11, 62-96.

14. Бойченко Е.А., Захарова Н.И. О пути углерода в фотосинтезе, Биохимия, 1956, 21, 374-379

15. Calvin M. The photosynthetic carbon cycle. Proc. Third Intern., Congr. Biochem. Brussels, 1955 (211-225), New York, 1956

16. Bassham J.A., Calvin M. The path of carbon in photosynthesis. Prentice-Hall, Inc., New York, 1957

17. Moyse A., Jolchine G. L'action de la lumiere sur la  $\beta$ -carboxylation et les oxydations dans les feuilles de Bryophyllum, Bull. Soc. Chim. biol., 1957, 39, 725-745

18. Ничипорович А.А. Продукты фотосинтеза и физиологическая роль фотосинтетического аппарата растений, Тр. Ин-та физиологии растений АН СССР, 1953, 8, 3-41.

19. Незговорова Л.А. Влияние водного режима растений на поступление и распределение углерода в процессе фотосинтеза, Физиол. растений, 1957, 4, 440-449.

20. Воскресенская Н.П. Об образовании органических кислот и аминокислот при фотосинтезе в разных условиях освещения, Физиол. растений, 1956, 3, 49-57.

21. Андреева Т.Ф. К вопросу о синтезе белка в зеленом листе, Физиол. растений, 1956, 3, 157-163.

22. Заленский О.В. О распределении углерода среди органических веществ, образующихся при участии фотосинтеза. Сб. Сессия Акад. наук по мирному использованию атомной энергии. Заседания отдел. биологич. наук, М.-Л., 1955, 198-220.

23. Заленский О.В., Вознесенский В.Л., Пономарева М.М., Штанько Т.П. Влияние температуры на метаболизм углерода ( $C^{14}$ ), поглощенного в процессе фотосинтеза, Ботан.ж., 1955, 40, 347-358.

24. Рилиппова Л.А. Дневные и сезонные изменения интенсивности и состава продуктов фотосинтеза у растений Восточного Памира. Автореф. дис. Л., 1955.

25. Семихатова О.А., Штанько Т.П. Опыт использования  $C^{14}$  для изучения дыхательного обмена в условиях различной температуры,

-19-

Ботан. ж. 1955, 40, 359-365.

26. Brown A.H. The effect of light on respiration using isotopically enriched oxygen, Amer. J. Bot., 1953, 40, 719-729

27. Brown A.H., Webster G.C. The influence of light on the rate of respiration of the blue-green algae Anabena, Amer. J. Bot., 1953, 40, 753-758

28. Заленский О.В. О взаимоотношениях между фотосинтезом и дыханием, Ботан. ж. 1957, 42, 1675-1690

29. Steeman Nielsen E. The interaction of photosynthesis and respiration and its importance for the determination of C<sup>14</sup>-discrimination in photosynthesis, Physiol. Plantarum, 1955, 8, 945-953

30. Сабинин Д.А. О значении корневой системы в жизнедеятельности растений. 9-е Тимирязевское чтение. Изд-во АН СССР, М., 1949.

31. Koursanov A.L. Circulation des matieres organiques dans la plante et action du systeme radiculaire Essais de Botanique. Изд. АН СССР, М.-Л., 1954, 1, 142-157

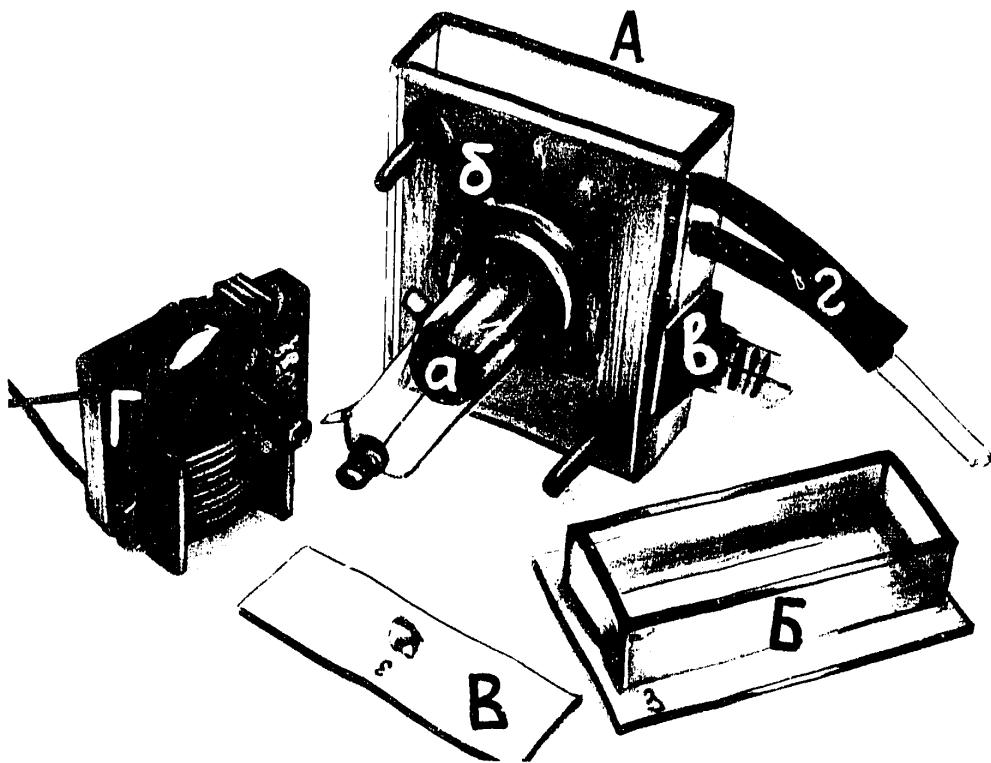


Рис. 1. Герметическая камера для изучения поглощения и выделения  $\text{CO}_2$  растениями. А- верхняя часть камеры со счетчиком (а), холодильником (б), пропеллером для перемешивания воздуха в камере (в) и трубками для введения газа (г); Б- нижняя часть камеры; В-кладыш, разделяющий верхнюю и нижнюю части камеры; Г-электромагнит для приведения в действие пропеллера в камере

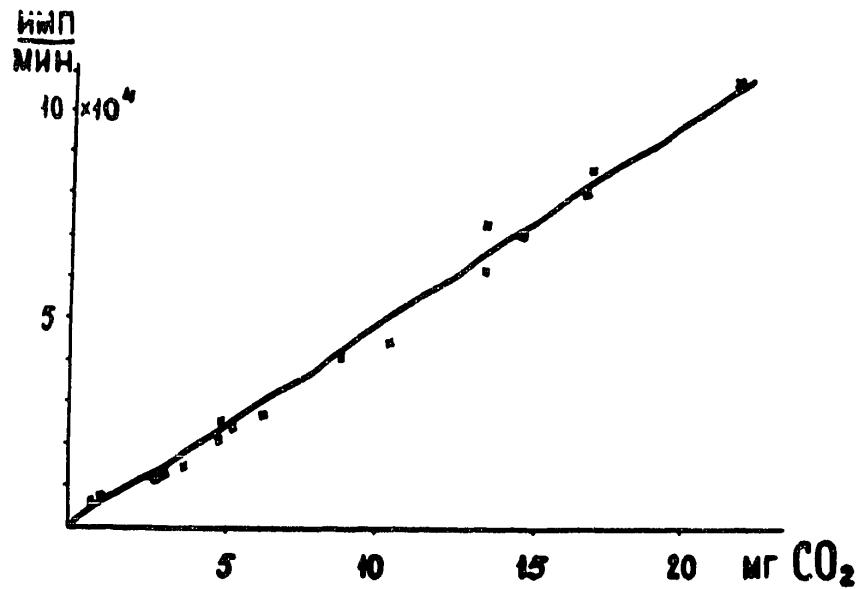


Рис. 2. Зависимость общего количества импульсов в минуту от количества углекислоты, поглощенного растениями

-11-

2551

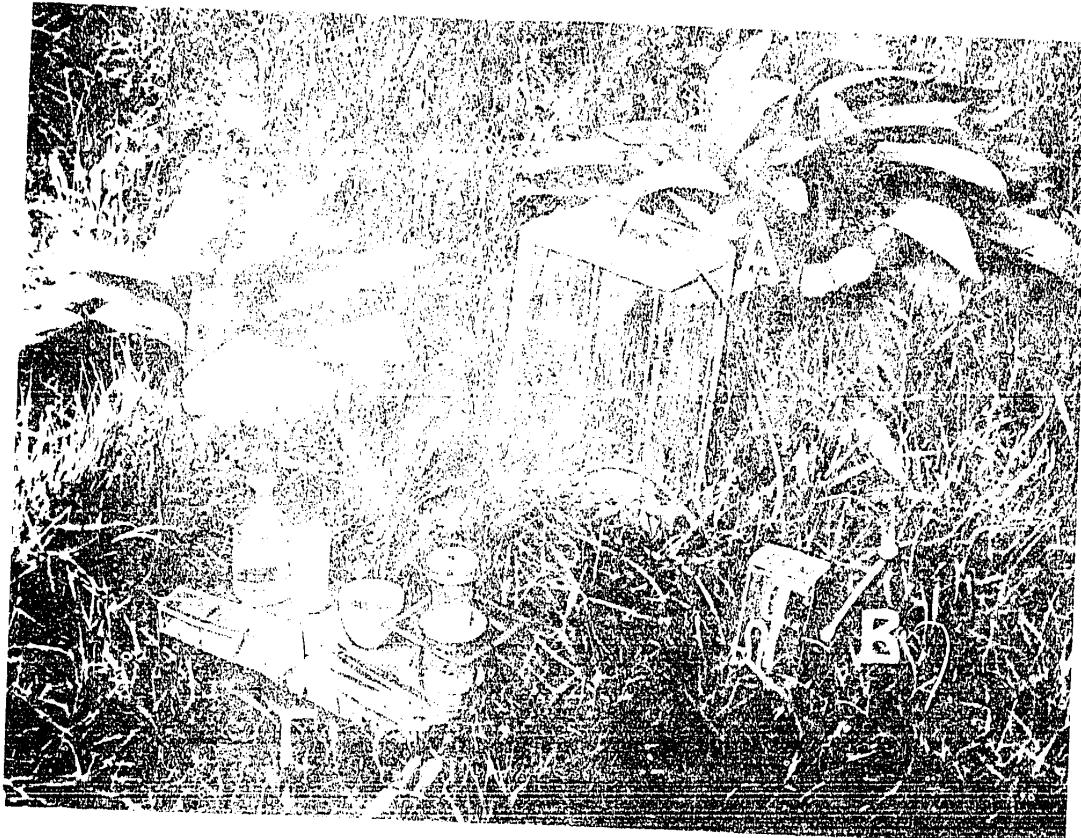


Рис. 3. Прибор для определения фотосинтеза в токе радиоактивной углекислоты. А- газольдер со смесью радиоактивной углекислоты; Б- листовая камера; В-насос; Г- поднос с приспособлениями для фиксации листьев

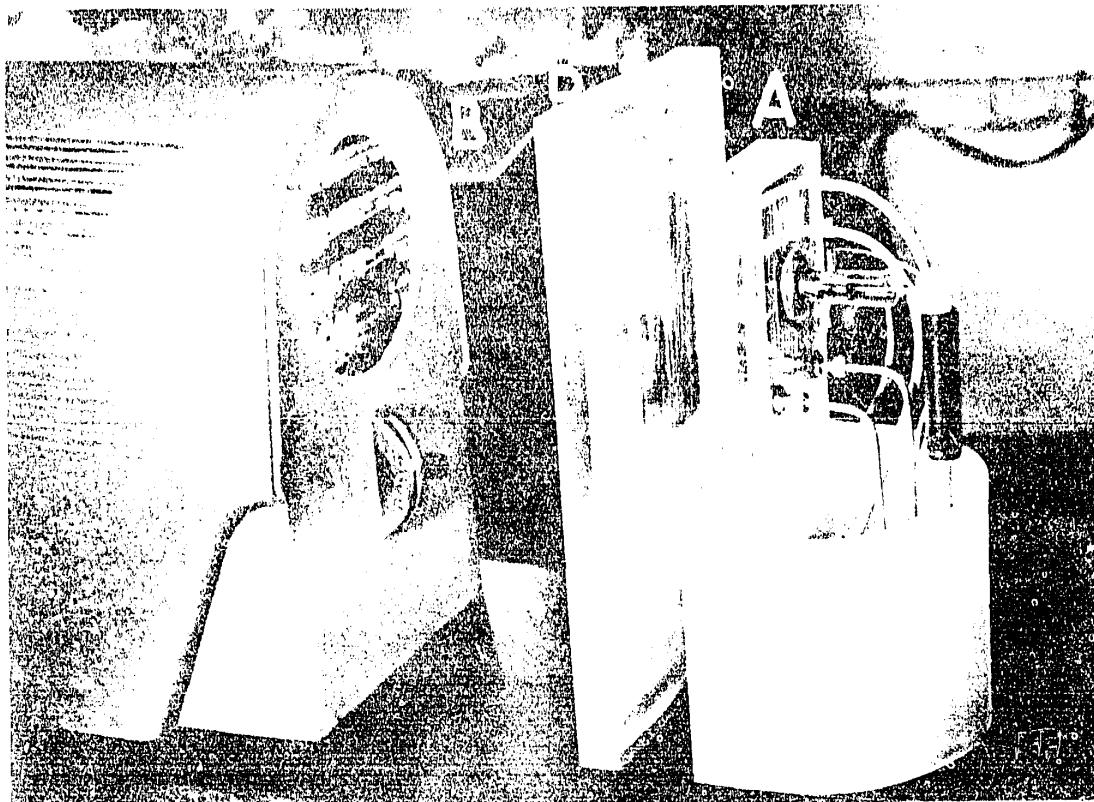


Рис. 4. Прибор для определения зависимости фотосинтеза от интенсивности освещения и концентрации  $\text{CO}_2$ . А-герметическая камера; В-водяной фильтр; В - осветитель

-23-



Рис. 5. Кривая изменения концентрации  $\text{CO}_2$  в герметической камере при фотосинтезе листа аралии (фотографическая запись самописца). ↓ - свет включен, АБ - прямолинейный участок кривой, БВ - участок кривой в зоне зависимости фотосинтеза от концентрации  $\text{CO}_2$